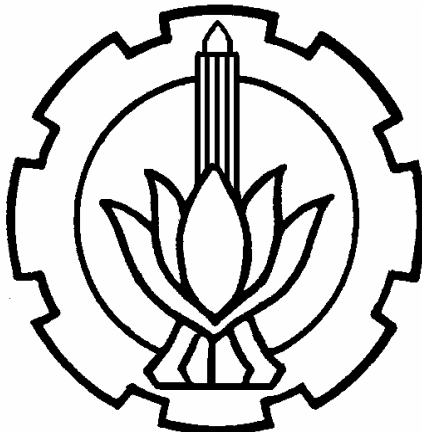
SKRIPSI

PENGARUH EKSTRAK SERBUK KAYU SIWAK (*Salvadora persica*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Streptococcus mutans* DAN *Staphylococcus aureus* DENGAN METODE DIFUSI LEMPENG AGAR

Penyusun :

Moch Rachdie Pratama

NRP. 1500.100.017

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER

2005

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penggunaan kayu siwak (*Salvadora persica*) telah dikenal semenjak berabad-abad lalu, terutama oleh bangsa Arab kuno yang hingga sekarang masih digunakan sebagai alat kebersihan mulut. Faktor sosial dan agama menjadi pendorong utama penggunaan kayu siwak (*Salvadora persica*) terutama bagi masyarakat muslim. Suatu studi komparatif *periodontal treatment* yang dilakukan terhadap pengguna siwak dengan non pengguna siwak menunjukkan bahwa tingkat masyarakat pengguna siwak memiliki level *periodontal treatment* yang lebih rendah dibandingkan masyarakat non pengguna siwak (Al-Lafi dan Ababneh, 1995).

Penelitian tentang analisa kandungan batang kayu siwak kering (*Salvadora persica*) dengan ekstraksi menggunakan etanol 80% kemudian dilanjutkan dengan ether lalu diteliti kandungannya melalui prosedur kimia ECP (*Exhaustive Chemical Procedure*) menunjukkan bahwa siwak mengandung zat-zat kimia seperti : trimetilamin, alkaloid yang diduga sebagai salvadorin, klorida, sejumlah besar fluorida dan silika, sulfur, vitamin C, serta sejumlah kecil tannin, saponin, flavenoid dan sterol. (El-Mostehy, *et. al*., 1995). Diantara zat-zat kimia tersebut bersifat antibakterial yang sangat efektif dalam membunuh dan menghambat beberapa pertumbuhan bakteri dan antifungal (al-Lafi dan Ababneh, 1995; Darout *et. al.*, 2000).

Darout dkk. (2000) melaporkan bahwa komponen kimiawi ekstrak kayu siwak sangat ampuh dalam menghilangkan plak dan mereduksi virulensi bakteri

periodontopathogenic. Kandungan anionik alami dalam siwak dipercaya sebagai antimikrobial efektif di dalam menghambat dan membunuh mikrobial. Seperti Nitrat dilaporkan mempengaruhi transpor aktif porline pada *Eschericia coli* dan terbukti ampuh pula di dalam menghambat fosforilasi oksidatif dan pengambilan oksigen *Pseudomonas aureginosa* dan *Staphylococcus aureus.* Hipotiosianat menunjukkan bereaksi dengan grup sulfihidril dalam enzim bakteri yang dapat menyebabkan kematian bakteri.

Zat antimikrobial merupakan zat yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme (Boyd and Marr, 1980). Al-Lafi dkk (1995) telah menguji aktivitas antibakterial dari kayu siwak untuk menghambat beberapa bakteri mulut yang aerob dan anaerob. Menurut hasil penelitian Gazi dkk. (1987), ekstrak kasar kayu siwak yang dijadikan cairan kumur dan dikaji sifat-sifat antiplaknya beserta efeknya terhadap bakteri penyusun plak menyebabkan penurunan drastis bakteri gram negatif batang. Almas (2003) meneliti efektifitas ekstrak siwak 50% dibandingkan dengan CHX (*Chlorhexidine Gluconate*) 0,2% pada dentin manusia secara SEM (*Scanning Electrony Microscopy*) menunjukkan bahwa ekstrak siwak 50% memiliki hasil yang sama dengan CHX 0,2% di dalam perlindungan dentin, namun ekstrak siwak 50% lebih dapat menghilangkan *smear layer* pada dentin dibandingkan CHX 0,2%.

Streptococcus mutans merupakan bakteri patogen pada mulut yang merupakan agen utama penyebab timbulnya plak, gingivitis dan caries gigi (Lee *et al*., 1992). Bakteri ini diujikan untuk melihat efektifitas ekstrak serbuk kayu siwak terhadap bakteri patogen mulut. Sedangkan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab intoksitasi dan terjadinya berbagai macam infeksi seperti pada

jerawat, bisul, pneumonia dan lainnya (Supardi dan Sukamto, 1999). Penulis sengaja menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* untuk melihat kemampuan ekstrak serbuk kayu siwak terhadap bakteri patogen pada kulit dan luka ini.

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis tertarik untuk melakukan uji antibakterial ekstrak serbuk kayu siwak (*S. persica*) dengan metode difusi lempeng agar dengan mengukur diameter zona terang (*Clear zone*) yang mana hasil pengukuran merupakan respon penghambatan pertumbuhan yang akan diklasifikasikan menurut Ahn dkk. (1994).

1.2. Permasalahan

Permasalahan dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh ekstrak serbuk kayu siwak (*S. persica*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus.*

1.3. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana pengaruh ekstrak serbuk kayu siwak (*S. persica*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus.*

1.4 Hipotesis

Semakin tinggi ekstrak serbuk kayu siwak maka daya hambat terhadap bakteri juga semakin besar.

1.5. Manfaat

Ekstrak serbuk kayu siwak (*Salvadora persica*) mengandung bahan-bahan kimiawi yang dapat menekan aktivitas mikrobial dan menghambat pertumbuhannya. Penelitian daya hambat ekstrak serbuk kayu siwak (*Salvadora persica*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* yang patogen terhadap mulut, dapat menunjukkan kemampuan ekstrak serbuk kayu siwak sebagai salah satu alternatif zat antibakterial yang dapat dikembangkan sebagai komoditas *oral cleaner device* (alat pembersih mulut) yang higinis dan efektif dalam mencegah *periodontal disease.*

Penelitian terhadap *Staphylococcus aureus* yang merupakan patogen pada saluran pernapasan, kulit dan luka dapat pula menunjukkan bahwa ekstrak serbuk kayu siwak bukan hanya efektif sebagai komponen antibakterial mulut, namun juga efektif dengan spektrum lebih luas.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Siwak (*Salvadora persica*)

2.1.1. Sejarah Penggunaan Siwak

Penggunaan alat-alat kebersihan mulut telah dimulai semenjak berabad-abad lalu. Manusia terdahulu menggunakan alat-alat kebersihan yang bermacam-macam seiring dengan perkembangan sosial, teknologi dan budaya. Beraneka ragam peralatan sederhana dipergunakan untuk membersihkan mulut mereka dari sisa-sisa makanan, mulai dari tusuk gigi, batang kayu, ranting pohon, kain, bulu burung, tulang hewan hingga duri landak. Diantara peralatan tradisional yang mereka gunakan dalam membersihkan mulut dan gigi adalah kayu siwak atau *chewing stick*. Kayu ini walaupun tradisional, merupakan langkah pertama transisi/peralihan kepada sikat gigi modern dan merupakan alat pembersih mulut terbaik hingga saat ini. (El-Mostehy, 1998).

Miswak (*Chewing Stick*) telah digunakan oleh orang Babilonia semenjak 7000 tahun yang lalu, yang mana kemudian digunakan pula di zaman kerajaan Yunani dan Romawi, oleh orang-orang Yahudi, Mesir dan masyarakat kerajaan Islam. Siwak memiliki nama-nama lain di setiap komunitas, seperti misalnya di Timur Tengah disebut dengan *miswak, siwak* atau *arak*, di Tanzania disebut *miswak*, dan di Pakistan dan India disebut dengan *datan* atau *miswak*. Penggunaan *chewing stick* (kayu kunyah) berasal dari tanaman yang berbeda-beda pada setiap negeri. Di Timur Tengah, sumber utama yang sering digunakan adalah pohon Arak (*Salvadora persica*), di Afrika Barat yang digunakan adalah pohon limun

(*Citrus aurantifolia*) dan pohon jeruk (*Citrus sinesis*). Akar tanaman Senna (*Cassiva vinea*) digunakan oleh orang Amerika berkulit hitam, Laburnum Afrika (*Cassia sieberianba*) digunakan di Sierre Leone serta Neem (*Azadirachta indica*) digunakan secara meluas di benua India. (Almas, 2003).

Meskipun siwak sebelumnya telah digunakan dalam berbagai macam kultur dan budaya di seluruh dunia, namun pengaruh penyebaran agama Islam dan penerapannya untuk membersihkan gigi yang paling berpengaruh. Istilah siwak sendiri pada kenyataannya telah umum dipakai selama masa kenabian Nabi Muhammad yang memulai misinya sekitar 543 M. Nabi Muhammad *Shallallahu 'alaihi wa Sallam* bersabda bahwa siwak adalah penerapan terhadap pembersihan gigi dan dicintai Allah. Beliau menambahkan, "Bila kamu membersihkan mulutmu berarti kamu menghormati Allah, dan saya diperintahkan Allah untuk bersiwak karena Allah telah mewahyukan kepada saya." Kepercayaan Nabi memandang kesehatan mulut yang baik amatlah besar, sehingga beliau senantiasa menganjurkan pada salah seorang isterinya untuk selalu menyiapkan siwak untuknya hingga akhir hayatnya. (Khoory, 1989)

Siwak terus digunakan hampir di seluruh bagian Timur Tengah, Pakistan, Nepal, India, Afrika dan Malaysia, khususnya di daerah pedalaman. Sebagian besar mereka menggunakannya karena faktor religi, budaya dan sosial. Ummat Islam di Timur Tengah dan sekitarnya menggunakan siwak minimal 5 kali sehari disamping juga mereka menggunakan sikat gigi biasa. Erwin-Lewis menyatakan bahwa pengguna siwak memiliki relatifitas yang rendah dijangkiti kerusakan dan penyakit gigi meskipun mereka mengkonsumsi bahan makanan yang kaya akan karbohidrat. (Khoory, 1989)

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Siwak (*Salvadora persica*)

Klasifikasi tanaman *Salvadora persica* menurut Tjitrosoepomo (1998) adalah sebagai berikut :

Divisio	: Embryophyta
Sub Divisio	: Spermatophyta
Class	: Dicotyledons
Sub Class	: Eudicotiledons
Ordo	: Brassicales
Family	: Salvadoraceae
Genus	: Salvadora
Spesies	: *Salvadora persica*

Gambar 2.1. Pohon *Salvadora persica*
(Sumber : Alsirhan, 2002)

2.1.3 Morfologi dan Habitat Tanaman Siwak (*Salvadora persica*)

Siwak atau Miswak, merupakan bagian dari batang, akar atau ranting tumbuhan *Salvadora persica* yang kebanyakan tumbuh di daerah Timur Tengah, Asia dan Afrika. Siwak berbentuk batang yang diambil dari akar dan ranting tanaman arak (*Salvadora persica*) yang berdiameter mulai dari 0,1 cm sampai 5 cm. Pohon arak adalah pohon yang kecil seperti belukar dengan batang yang bercabang-cabang, berdiameter lebih dari 1 kaki sebagaimana pada gambar 2.1. Jika kulitnya dikelupas berwarna agak keputihan dan memiliki banyak juntaian serat. Akarnya berwarna cokelat dan bagian dalamnya berwarna putih. Aromanya seperti seledri dan rasanya agak pedas. (Al-Khateeb, 1991).

Siwak berfungsi mengikis dan membersihkan bagian dalam mulut. Kata siwak sendiri berasal dari bahasa arab *'yudlik'* yang artinya adalah memijat (massage). Siwak lebih dari sekedar sikat gigi biasa, karena selain memiliki serat batang yang elastis dan tidak merusak gigi walaupun di bawah tekanan yang keras, siwak juga memiliki kandungan alami antimikrobial dan *antidecay system*. Batang siwak yang berdiameter kecil, memiliki kemampuan fleksibilitas yang tinggi untuk menekuk ke daerah mulut secara tepat dan dapat mengikis plak pada gigi. Bentuk batang siwak dapat dilihat pada gambar 2.2. Siwak juga aman dan sehat bagi perkembangan gusi. (El-Mostehy *et al.,* 1998).

Gambar 2.2. Sebatang kayu siwak
(Sumber : Almas, 2003)

2.1.4. Kandungan Kimia Batang Kayu Siwak

Al-Lafi dan Ababneh (1995) melakukan penelitian terhadap kayu siwak dan melaporkan bahwa siwak mengandung mineral-mineral alami yang dapat membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri, mengikis *plaque*, mencegah gigi berlubang serta memelihara gusi. Siwak memiliki kandungan kimiawi yang bermanfaat, meliputi :

- *Antibacterial Acids*, seperti astringents, abrasive dan detergent yang berfungsi untuk membunuh bakteri, mencegah infeksi, menghentikan pendarahan pada gusi. Penggunaan kayu siwak yang segar pertama kali, akan terasa agak pedas dan sedikit membakar, karena terdapat kandungan serupa *mustard* yang merupakan substansi *antibacterial acid* tersebut.
- Kandungan kimiawi seperti Klorida, Pottasium, Sodium Bicarbonate, Fluorida, Silika, Sulfur, Vitamin C, Trimetilamin, Salvadorin, Tannin dan beberapa mineral lainnya yang berfungsi untuk membersihkan gigi, memutihkan dan menyehatkan gigi dan gusi. Bahan-bahan ini sering diekstrak sebagai bahan penyusun pasta gigi.

- Minyak aroma alami yang memiliki rasa dan bau yang segar, yang dapat menyegarkan mulut dan menghilangkan bau tidak sedap.
- Enzim yang mencegah pembentukan plak yang merupakan penyebab radang gusi dan penyebab utama tanggalnya gigi secara prematur.
- *Anti Decay Agent* (Zat anti pembusukan) dan *Antigermal System*, yang bertindak seperti Penicilin menurunkan jumlah bakteri di mulut dan mencegah terjadinya proses pembusukan. Siwak juga turut merangsang produksi saliva, dimana saliva sendiri merupakan organik mulut yang melindungi dan membersihkan mulut.

Secara Kimiawi, kulit batang kayu siwak yang kering bila diekstrak dengan alkohol 80% dan kemudian diekstrak dengan ether, lalu diteliti secara terperinci kandungannya melalui ECP (*Exhaustive Procedure Chemicle*), maka akan ditemukan zat-zat kimia sebagai berikut : *Trimetilamin, chloride, resin*, sejumlah besar *fluoride* dan *silica*, sulfur dan vitamin C (El-Mostehy *et al.*, 1998).

Menurut laporan Lewis (1982), penelitian kimiawi terhadap tanaman ini telah dilakukan semenjak abad ke-19, dan ditemukan sejumlah besar klorida, fluor, trimetilamin dan resin. Kemudian dari hasil penelitian Farooqi dan Srivastava (1990) ditemukan silika, sulfur dan vitamin C. Kandungan kimia tersebut sangat bermanfaat bagi kesehatan gigi dan mulut dimana trimetilamin dan vitamin C membantu penyembuhan dan perbaikan jaringan gusi. Klorida bermanfaat untuk menghilangkan noda pada gigi, sedangkan silika dapat bereaksi sebagai penggosok. Kemudian keberadaan sulfur dikenal dengan rasa hangat dan baunya yang khas, adapun fluorida berguna bagi kesehatan gigi sebagai pencegah

terjadinya karies dengan memperkuat lapisan email dan mengurangi larutnya terhadap asam yang dihasilkan oleh bakteri.

Khoory (1989) menjelaskan bahwa siwak kaya dengan fluorida dan silika, fluorida mengerahkan proses antikariogenik dengan cara sebagai berikut :

1) Perubahan hydroxypatite menjadi fluorapatite yang lebih tahan terhadap *acid dissolution*.
2) Bercampurnya *acidogenic* organisme di dalam plak gigi sehingga mengurangi pH dari plak gigi.
3) Membantu memulihkan kembali gigi yang baru rusak.
4) Membentuk efek penghambat terhadap pertumbuhan bakteri pada plak gigi.

Adapun silika berfungsi membantu membersihkan gigi karena silika bekerja sebagai bahan penggosok yang dapat menghilangkan noda. (Khoory, 1989)

2.1.5. Kandungan Antimikrobial Siwak Terhadap Periodontal Treatment

El-Mostehy dkk (1998) melaporkan bahwa tanaman siwak mengandung zat-zat antibakterial. Darout *et al.* (2000) Melaporkan bahwa antimikrobial dan efek pembersih pada miswak telah ditunjukkan oleh variasi kandungan kimiawi yang dapat terdeteksi pada ekstraknya. Efek ini dipercaya berhubungan dengan tingginya kandungan Sodium Klorida dan Pottasium Klorida seperti *salvadourea* dan *salvadorine*, saponin, tannin, vitamin C, silika dan resin, juga *cyanogenic glycoside* dan *benzylsothio-cyanate*. Hal ini dilaporkan bahwa komponen anionik alami terdapat pada spesies tanaman ini yang mengandung agen antimikrobial yang melawan beberapa bakteri. Nitrat (NO_3^-) dilaporkan mempengaruhi

transportasi aktif porline pada *Escherichia coli* seperti juga pada aldosa dari *E. coli* dan *Streptococcus faecalis*. Nitrat juga mempengaruhi transport aktif oksidasi fosforilasi dan pengambilan oksigen oleh *Pseudomonas aeruginosa* dan *Stapyhylococcus aureus* sehingga terhambat.

Komponen anionik antibakterial lainnya terdapat pada beberapa spesies tanaman adalah sulfat (SO_4^{2-}), klorida (Cl^-) dan tiosianat (SCN^-). Tiosianat (SCN^-) bertindak sebagai substrat untuk laktoperoksidase untuk membangkitkan hipotiosianit ($OSCN^-$) dengan keberadaan hidrogen peroksida. $OSCN^-$ telah ditunjukkan bereaksi dengan kelompok sulfahidril di dalam enzim bakteri yang berubah menjadi penyebab kematian bakteri. (Darout *et al.*, 2000)

Menurut hasil penelitian Gazi *et al.* (1987) ekstrak kasar batang kayu siwak pada pasta gigi yang dijadikan cairan kumur, dikaji sifat-sifat antiplaknya dan efeknya terhadap komposisi bakteri yang menyusun plak dan menyebabkan penurunan bakteri gram negatif batang.

Almas (2002) meneliti perbandingan pengaruh antara ekstrak siwak dengan *Chlorhexidine Gluconate* (CHX) yang sering digunakan sebagai cairan kumur dan zat anti plak pada dentin manusia dengan SEM (*Scanning Electron Microscopy*). Almas melaporkan bahwa 50% ekstrak siwak dan CHX 0,2% memiliki efek yang sama pada dentin manusia, namun ekstrak siwak lebih banyak menghilangkan lapisan noda-noda (*Smear layer*) pada dentin.

Sebuah penelitian tentang *Periodontal Treatment* (Perawatan gigi secara berkala) dengan mengambil sampel terhadap 480 orang dewasa berusia 35-65 tahun di kota Makkah dan Jeddah oleh para peneliti dari King Abdul Aziz University Jeddah, menunjukkan bahwa *Periodontal Treatment* untuk masyarakat

Makkah dan Jeddah adalah lebih rendah daripada treatment yang harus diberikan kepada masyarakat di negara lain, hal ini mengindikasikan rendahnya kebutuhan masyarakat Makkah dan Jeddah terhadap *Periodontal Treatment*. (Al-Khateeb, 1991).

Penelitian lain dengan menjadikan serbuk (powder) siwak sebagai bahan tambahan pada pasta gigi dibandingkan dengan penggunaan pasta gigi tanpa campuran serbuk siwak menunjukkan bahwa prosentase hasil terbaik bagi kesehatan gigi secara sempurna adalah dengan menggunakan pasta gigi dengan butiran-butiran serbuk siwak, karena butiran-butiran serbuk siwak tersebut mampu menjangkau sela-sela gigi secara sempurna dan mengeluarkan sisa-sisa makanan yang masih bersarang pada sela-sela gigi. Hal ini yang mendorong perusahaan-perusahaan pasta gigi di dunia menyertakan serbuk siwak ke dalam produk pasta gigi mereka. WHO (World Health Organization) turut menjadikan siwak sebagai salah satu komoditas kesehatan yang perlu dipelihara dan dibudidayakan. (Al-Khateeb, 1991).

2.2. Tinjauan Umum terhadap Zat Antibakterial

Pertumbuhan mikroorganisme dapat dikendalikan melalui proses fisik dan kimia. Pengendalian dapat berupa pembasmian dan penghambatan populasi mikroorganisme. Menurut Pelczar dan Chan (1998), zat antimikrobial adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan dan metabolisme melalui mekanisme penghambatan pertumbuhan mikroorganisme. Zat antimikrobial terdiri dari antijamur dan antibakterial. Zat antibakterial adalah zat yang mengganggu

pertumbuhan dan metabolisme melalui penghambatan pertumbuhan bakteri. (Boyd and Marr, 1980; Pelczar, 1988).

Beberapa hal yang perlu dipertimbangkan dalam memilih zat antimikrobial kimiawi adalah :

1. Jenis zat dan mikroorganisme

   Zat antimikrobial yang akan digunakan harus sesuai dengan jenis mikroorganismenya karena memiliki kerentanan yang berbeda-beda.

2. Konsentrasi dan intensitas zat antimikrobial

   Semakin tinggi konsentrasi zat antimikrobial yang digunakan, maka semakin tinggi pula daya kemampuannya dalam mengendalikan mikroorganisme.

3. Jumlah organisme

   Semakin banyak mikroorganisme yang dihambat atau dibunuh, maka semakin lama waktu yang diperlukan untuk mengendalikannya.

4. Suhu

   Suhu yang optimal dapat menaikkan efektivitas zat antimikrobial

5. Bahan organik

   Bahan organik asing dapat menurunkan efektivitas zat antimikrobial dengan cara menginaktifkan bahan tersebut atau melindungi mikroorganisme. Hal tersebut karena penggabungan zat dan bahan organik asing membentuk zat antimikrobial yang berupa endapan sehingga zat antimikrobial tidak lagi mengikat mikroorganisme. Akumulasi bahan organik terjadi pada permukaan sel mikroorganisme sehingga menjadi

pelindung yang mengganggu kontak antara zat antimikrobial dengan mikroorganisme. (Pelczar, 1998).

Sejak 1935, sejumlah besar agen obat kimia telah dikembangkan. Senyawa kimia tersebut pada umumnya dibuat secara sintesis di laboratorium, sedangkan yang lain dibuat dari hasil sampingan kegiatan metabolisme bakteri atau fungi. Agen obat kimia diberi nama umum *Antibiotika*. (Volk and Wheeler, 1993). Antibiotika adalah bahan-bahan bersumber hayati yang pada kadar rendah sudah menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Jadi, antibiotika merupakan salah satu jenis antibakterial. (Schlegel, 1994).

Kriteria agen obat kimia yang digunakan sebagai kemoterapi adalah sebagai berikut :

1. Toksisitas obat terhadap sel inang harus rendah sementara memusnahkan atau menghambat agen penyakit. Dengan kata lain, obat itu harus menunjukkan toksisitas selektif bagi agen penyakit.
2. Inang harus tidak menjadi alergi (sangat peka) terhadap obat.
3. Organisme tidak boleh dengan mudah menjadi resisten terhadap obat yang digunakan.
4. Obat itu harus mencapai tempat infeksi. (Schlegel, 1994).

2.3. Tinjauan Umum Bakteri *Streptococcus mutans*

Klasifikasi *S. mutans* menurut Bergey dalam Capuccino (1998) adalah :

Kingdom : Monera

Divisio : Firmicutes

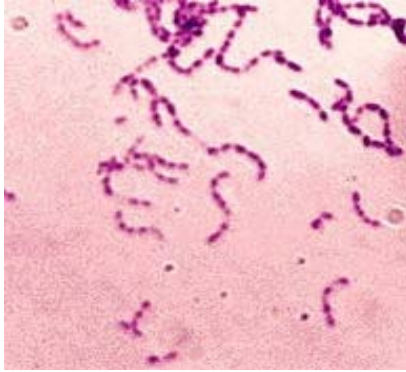
Class : Bacilli

Order : Lactobacilalles

Family : Streptococcaceae

Genus : Streptococcus

Species : *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans adalah salah satu jenis dari bakteri Streptococcus Viridans (golongan α hemolitik) yang mendapat perhatian khusus, karena kemampuannya dalam proses pembentukan plak dan karies gigi (Joklik *et al.,* 1980; Nolte, 1982). Bakteri ini pertama kali diisolasi dari plak gigi oleh Clark pada tahun 1924 yang memiliki kecenderungan berbentuk *coccus* dengan formasi rantai panjang apabila ditanam pada medium yang diperkaya seperti pada *Brain Heart Infusion* (BHI) Broth sebagaimana pada gambar 2.3, sedangkan bila ditanam di media agar memperlihatkan rantai pendek dengan bentuk sel tidak beraturan (Michalek dan Mc Ghee, 1982).

Gambar 2.3 : *Streptococcus mutans* (Perbesaran 400x)
(Sumber : wikipedia)

Michalek dan Mc Ghee (1982) serta Nolte (1982) menyatakan bahwa media selektif untuk pertumbuhan *Streptococcus mutans* adalah agar Mitis Salivarius, yang menghambat kebanyakan bakteri mulut lainnya kecuali Streptococcus. Penghambatan pertumbuhan bakteri mulut lainnya pada agar Milis Salivarius disebabkan karena kadar biru trypan. Di samping itu, media ini juga mengandung kristal violet, telurit dan sukrosa berkadar tinggi.

Streptococcus mutans yang tumbuh pada agar Mitis Salivarius memperlihatkan bentuk koloni halus berdiameter 0,5 - 1,5 mm, cembung, berwarna biru tua dan pada pinggiran koloni kasar serta berair membentuk genangan di sekitarnya. Seperti bakteri streptococcus lainnya, bakteri ini juga bersifat gram positif, selnya berbentuk bulat atau lonjong dengan diameter 1 μm dan tersusun dalam bentuk rantai. (Michalek dan Mc Ghee, 1982).

Streptococcus mutans tumbuh dalam suasana fakultatif anaerob (Lehner, 1992; Michalek dan Mc Ghee, 1982). Menurut Nolte (1982) dalam keadaan anaerob, bakteri ini memerlukan 5% CO_2 dan 95% nitrogen serta memerlukan

amonia sebagai sumber nitronen agar dapat bertahan hidup dalam lapisan plak yang tebal.

Streptococcus mutans menghasilkan dua enzim, yaitu glikosiltransferase dan fruktosiltransferase. Enzim-enzim ini bersifat spesifik untuk subtsrat sukrosa yang digunakan untuk sintesa glukan dan fruktan. Pada metabolisme karbohidrat, enzim glikosiltransferase menggunakan sukrosa untuk mensintesa molekul glukosa dengan berat molekul tinggi yang terdiri dari ikatan glukosa alfa (1-6) dan alfa (1-3) (Michalek dan Mc Ghee, 1982). Ikatan glukosa alfa (1-3) bersifat sangat pekat seperti lumpur, lengket dan tidak larut dalam air. Kelarutan ikatan glukosa alfa (1-3) dalam air sangat berpengaruh terhadap pembentukan koloni *Streptococcus mutans* pada permukaan gigi. Ikatan glukosa alfa (1-3) berfungsi pada perlekatan dan peningkatan koloni bakteri ini dalam kaitannya dengan pembentukan plak dan terjadinya karies gigi. (Roeslan dan Melanie, 1988).

2.4. Tinjauan Umum Bakteri *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi *S. aureus* menurut Bergey dalam Capuccino (1998) adalah :

Kingdom : Monera

Divisio : Firmicutes

Class : Bacilli

Order : Bacillales

Family : Staphylococcaceae

Genus : Staphilococcus

Species : *Staphilococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram Positif, tidak bergerak, tidak berspora dan mampu membentuk kapsul. (Boyd, 1980), berbentuk kokus dan tersusun seperti buah anggur (Todar, 2002) sebagaimana terlihat pada gambar 2.4. Ukuran *Staphylococcus* berbeda-beda tergantung pada media pertumbuhannya. Apabila ditumbuhkan pada media agar, *Staphylococcus* memiliki diameter 0,5-1,0 μm dengan koloni berwarna kuning. Dinding selnya mengandung asam teikoat, yaitu sekitar 40% dari berat kering dinding selnya. Asam teikoat adalah beberapa kelompok antigen dari *Staphylococcus*. Asam teikoat mengandung aglutinogen dan N-asetilglukosamin. (Boyd, 1980).

Gambar 2.4 *Staphylococcus aureus* dengan Scan Electron Microscopy
(Perbesaran : 5.000 x, Sumber : wikipedia)

Staphylococcus aureus adalah bakteri aerob dan anaerob, fakultatif yang mampu menfermentasikan manitol dan menghasilkan enzim koagulase, hyalurodinase, fosfatase, protease dan lipase. *Staphylococcus aureus* mengandung lysostaphin yang dapat menyebabkan lisisnya sel darah merah. Toksin yang dibentuk oleh *Staphylococcus aureus* adalah haemolysin alfa, beta, gamma, delta dan apsilon. Toksin lain ialah leukosidin, enterotoksin dan eksfoliatin. Enterotoksin dan eksoenzim dapat menyebabkan keracunan makanan terutama

yang mempengaruhi saluran pencernaan. Leukosidin menyerang leukosit sehingga daya tahan tubuh akan menurun. Eksofoliatin merupakan toksin yang menyerang kulit dengan tanda-tanda kulit terkena luka bakar. (Boyd, 1980; Schlegel, 1994).

Suhu optimum untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah 35^{o} – 37^{o} C dengan suhu minimum $6{,}7^{o}$ C dan suhu maksimum $45{,}4^{o}$ C. Bakteri ini dapat tumbuh pada pH 4,0 – 9,8 dengan pH optimum 7,0 – 7,5. Pertumbuhan pada pH mendekati 9,8 hanya mungkin bila substratnya mempunyai komposisi yang baik untuk pertumbuhannya. Bakteri ini membutuhkan asam nikotinat untuk tumbuh dan akan distimulir pertumbuhannya dengan adanya thiamin. Pada keadaan anaerobik, bakteri ini juga membutuhkan urasil. Untuk pertumbuhan optimum diperlukan sebelas asam amino, yaitu valin, leusin, threonin, phenilalanin, tirosin, sistein, metionin, lisin, prolin, histidin dan arginin. Bakteri ini tidak dapat tumbuh pada media sintetik yang tidak mengandung asam amino atau protein. (Supardi dan Sukamto, 1999).

Selain memproduksi koagulase, *S. aureus* juga dapat memproduksi berbagai toksin, diantaranya :

1. Eksotoksin-α yang sangat beracun
2. Eksotoksin-β yang terdiri dari hemosilin, yaitu suatu komponen yang dapat menyebabkan lisis pada sel darah merah.
3. Toksin F dan S, yang merupakan protein eksoseluler dan bersifat leukistik.
4. Hialuronidase, yaitu suatu enzim yang dapat memecah asam hyaluronat di dalam tenunan sehingga mempermudah penyebaran bakteri ke seluruh tubuh.

5. Grup enterotoksin yang terdiri dari protein sederhana. (Supardi dan Sukamto, 1999).

Staphylococcus aureus hidup sebagai saprofit di dalam saluran-saluran pengeluaran lendir dari tubuh manusia dan hewan-hewan seperti hidung, mulut dan tenggorokan dan dapat dikeluarkan pada waktu batuk atau bersin. Bakteri ini juga sering terdapat pada pori-pori dan permukaan kulit, kelenjar keringat dan saluran usus. Selain dapat menyebabkan intoksikasi, *S. aureus* juga dapat menyebabkan bermacam-macam infeksi seperti jerawat, bisul, meningitis, osteomielitis, pneumonia dan mastitis pada manusia dan hewan. (Supardi dan Sukamto, 1999).

2.5. Metode Uji Antibakteria

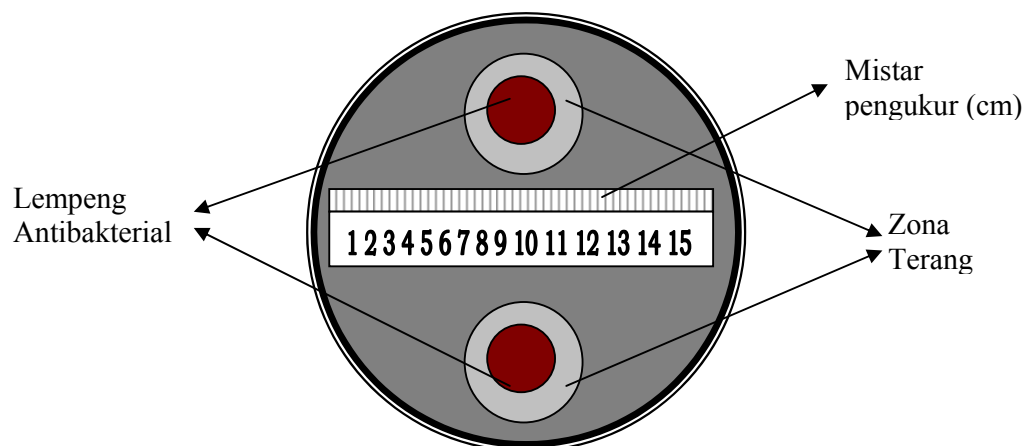
Konsentrasi minimun penghambatan atau lebih dikenal dengan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) adalah konsentrasi terendah dari antibiotika atau antimikrobial yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba tertentu. Nilai MIC adalah spesifik untuk tiap-tiap kombinasi dari antibiotika dan mikroba. (Greenwood, 1995)

MIC dari sebuah antibiotika terhadap mikroba digunakan untuk mengetahui sensitivitas dari mikroba terhadap antibiotika. Nilai MIC berlawanan dengan sensitivitas mikroba yang diuji. Semakin rendah nilai MIC dari sebuah antibiotika, sensitivitas dari bakteri akan semakin besar. MIC dari sebuah antibiotika terhadap spesies mikroba adalah rata-rata MIC terhadap seluruh strain dari spesies tersebut. Strain dari beberapa spesies mikroba adalah sangat berbeda dalam hal sensitivitasnya. (Greenwood, 1995).

Metode uji antimikrobial yang sering digunakan adalah metode Difusi Lempeng Agar. Uji ini dilakukan pada permukaan medium padat. Mikroba ditumbuhkan pada permukaan medium dan kertas saring yang berbentuk cakram yang telah mengandung mikroba. Setelah inkubasi diameter zona penghambatan diukur. Diameter zona pengambatan merupakan pengukuran MIC secara tidak langsung dari antibiotika terhadap mikroba. Sensitivitas klinik dari mikroba kemudian ditentukan dari tabel klasifikasi menurut Ahn dkk . (Greenwood, 1995)

Tabel 2.1. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri (Ahn dkk, 1994)

Diameter Zona terang	Respon hambatan pertumbuhan
> 20 mm	Kuat
16-20 mm	Sedang
10-15 mm	Lemah
< 10 mm	Tidak ada

Metode uji antibakterial dan antimikrobial yang lain adalah dengan teknik *Tube Dillution Test*. Fungsinya untuk mengetahui hasil MIC secara langsung. Metode yang lain adalah metode E-test, yang merupakan metode uji difusi agar yang dengan mudah dan cepat memperoleh hasil MIC. (Greenwood, 1995).

(Sumber : Capuccino dan Sherman, 2001)
Gambar 2.5. Contoh hasil Difusi Lempeng Agar (Clear Zone)

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi ukuran zona penghambatan dan harus dikontrol adalah :

a. Konsentrasi mikroba pada permukaan medium. Semakin tinggi konsentrasi mikroba maka zona penghambatan akan semakin kecil.
b. Kedalaman medium pada cawan petri. Semakin tebal medium pada cawan petri maka zona penghambatan akan semakin kecil.
c. Nilai pH dari medium. Beberapa antibiotika bekerja dengan baik pada kondisi asam dan beberapa basa kondisi alkali/basa.
d. Kondisi aerob/anaerob. Beberapa antibakterial kerja terbaiknya pada kondisi aerob dan yang lainnya pada kondisi aerob (Greenwood, 1995)

BAB III

METODOLOGI

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian Tugas Akhir ini dilaksanakan pada bulan Mei 2005 sampai bulan Juli 2005 di Laboratorium Biologi, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan proses ekstraksi kayu siwak dilaksanakan di Laboratorium Penelitian, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.

3.2 Cara Kerja

3.2.1. Tahap Persiapan

3.2.1.1 Ekstraksi kayu siwak

Serbuk siwak dari PT MISWAK diekstrak dengan *Maseration Tube* dan *Rotary Evaporator Unit* di Laboratorium Penelitian, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam ITS Surabaya.

3.2.1.2. Sterilisasi alat dan Bahan

Cawan Petri, Tabung Reaksi, erlenmeyer, Penjepit, Spatula, Media Blood Agar, Media Brain Heart Infusion Broth, dan seluruh alat dan bahan (kecuali ekstrak serbuk kayu siwak) yang akan digunakan disterilisasi di dalam autoclave selama 20 menit dengan mengatur tekanan sebesar 15 dyne/cm^3 (1 atm) dan suhu sebesar 121^o C setelah sebelumnya dicuci bersih, dikeringkan dan dibungkus dengan kertas. (Capuccino dan Sherman, 2001, Pelszar, 1986)

3.2.1.3 Pembuatan stok suspensi bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan untuk perbanyakan stok, dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan murni ke dalam 10 ml *Brain Heart Infusion* (BHI), kemudian diinkubasi pada suhu 37^{o} C selama 24 jam di dalam inkubator. Kemudian diencerkan dengan cara diambil dengan pipet sebanyak 0,1 ml dan dimasukkan ke dalam media BHI 9,9 ml lalu divortex hingga homogen untuk mendapatkan pengenceran suspensi sebesar 10^{-2}. Dari suspensi 10^{-1} diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam 9 ml BHI lalu divortex hingga homogen untuk mendapatkan pengenceran 10^{-3}.

3.2.1.4 Pembuatan stok variabel konsentrasi

Stok konsentrasi yang akan divariasikan adalah mulai dari 0% (kontrol), 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% (kontrol) yang kesemuanya berjumlah 11 variabel. Ekstrak diencerkan dengan aquades steril dan hasilnya dicampur agar homogen dengan vortex.

3.2.2 Tahap Pengujian

3.2.2.1 Uji penghambatan pertumbuhan bakteri

Cawan petri yang berisi media blood agar sebanyak kurang lebih 10 ml diberi suspensi bakteri sebanyak kurang lebih 0,5 ml dan diratakan ke dalam cawan Petri. Air sisa suspensi dibuang untuk menghindarkan terjadinya *spreader*. Setelah itu Media didinginkan hingga memadat.

Setiap bakteri yang diujikan untuk setiap variasi konsentrasi ekstrak serbuk kayu *Salvadora persica* memerlukan 3 cawan petri, dimana dalam satu cawan petri diujikan dengan 4 kertas cakram, kecuali 1 cawan yang berisi 2 cakram dengan variabel yang sama. Kertas cakram yang telah ditetesi sebanyak 0,1 ml stok suspensi konsentrasi ekstrak serbuk kayu siwak tadi diletakkan di atas permukaan agar secara higinis di dalam *Laminar Air Flow*.

Kertas cakram yang digunakan adalah kertas *Whatman*™ dengan diameter sebesar 10 mm (1 cm) yang memiliki pori-pori rapat (0.05 mikropore). Kertas cakram sebelum digunakan disterilisasi dengan cara dimasukkan di dalam petridish kemudian disterilisasi di dalam auto-clave pada suhu 121^{o}C dan tekanan 1 atm untuk menghindari terjadinya kontaminasi.

Biakan bakteri murni *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* diperbanyak dengan cara pembuatan suspensi bakteri di dalam *Brain Heart Infusion broth*. Suspensi bakteri diinkubasi di dalam inkubator pada suhu optimum pertumbuhan 37^{o} C selama 24 jam. Untuk menghindari terjadinya penebalan pertumbuhan pada media dan *spreader*, suspensi perlu diencerkan menjadi 10^{-3}.

Hal ini perlu dilakukan, karena konsentrasi bakteri pada permukaan media mempengaruhi efek antibakterial. Jika semakin tinggi konsentrasi bakteri, maka zona penghambatan akan semakin kecil. (Greenwood, 1995). Jika jumlah volume suspensi bakteri tidak sama, maka akan turut memberikan pengaruh pada pembentukan zona terang.

Kertas cakram ditetesi sebanyak 0,1 ml variasi konsentrasi ekstrak untuk mendapatkan jumlah/volume ekstrak yang seragam antar tiap perlakuan.

Hal ini perlu dilakukan untuk mendapatkan volume ekstrak yang sama antar tiap perlakuan, karena jika berbeda akan mempengaruhi pembentukan zona terang. Sebab, jika semakin banyak zat antimikrobial yang diberikan maka zona terang akan semakin besar (Greenwood, 1995).

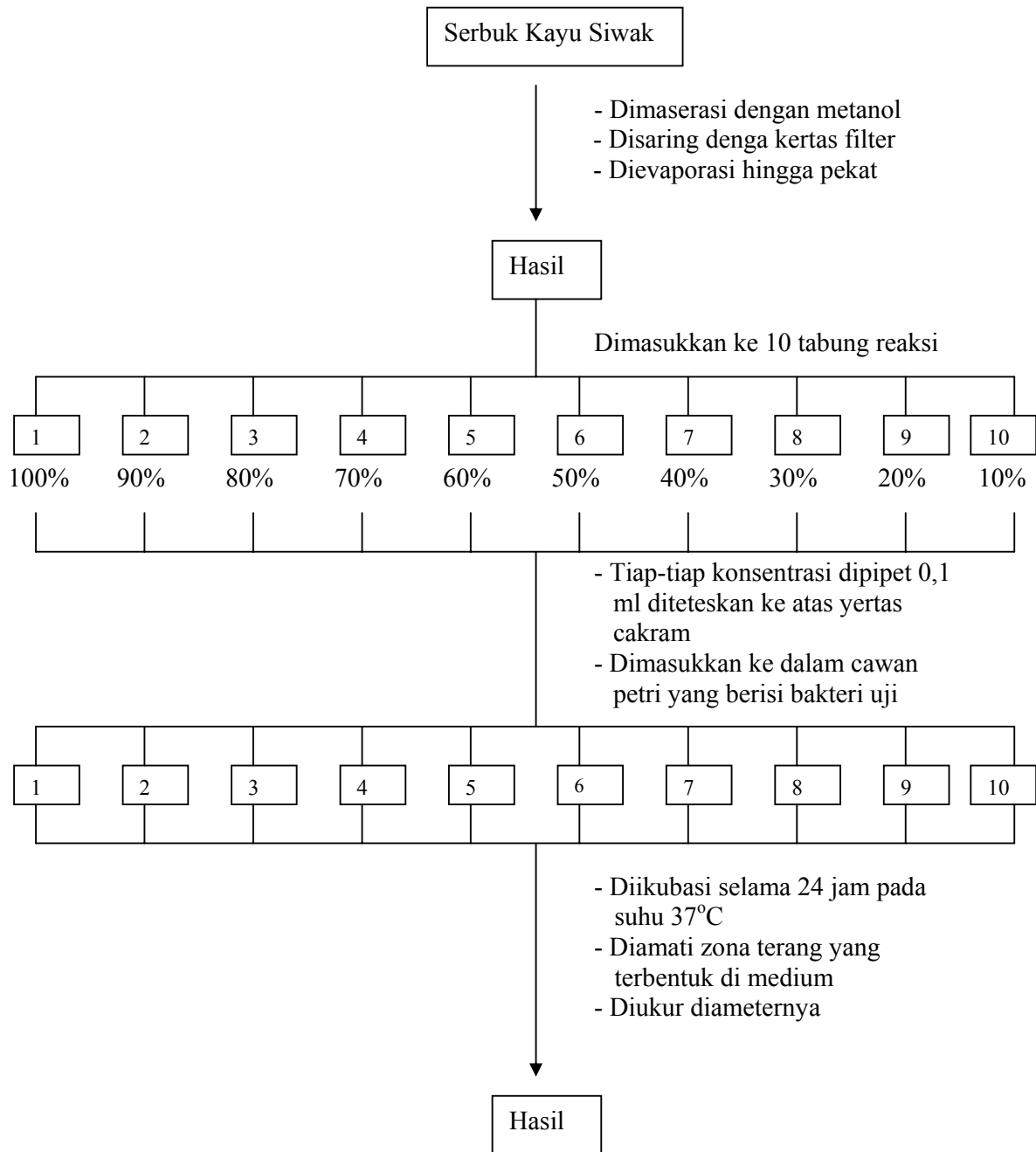
Lalu media diinkubasi ke dalam inkubator. Inkubasi dilakukan pada suhu 37^{o} C selama 24 jam, kemudian diukur diameter zona terang (clear zone) dengan menggunakan penggaris (milimeter). Tabel 3.1 menunjukkan respon hambatan pertumbuhan bakteri diklasifikasikan menurut Ahn, dkk. (1994). Perlakuan dilakukan dengan repetisi sebanyak 3 kali.

Tabel 3.1. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri (Ahn dkk, 1994)

Diameter Zona terang	Respon hambatan pertumbuhan
> 20 mm	Kuat
16-20 mm	Sedang
10-15 mm	Lemah
< 10 mm	Tidak ada

3.2.2.2 Analisis Data

Untuk menganalisis data hasil penelitian, dipergunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dianalisa dengan Analisis Varian (Anava) satu arah untuk mengetahui apakah ada perbedaan atau pengaruh pada tiap perlakuan dan dilanjutkan dengan Uji Duncan dengan taraf kepercayaan 5 %.

Secara skematis cara kerja dalam penelitian ini sebagai berikut :

Gambar 3.1 Diagram alir pengujian aktivitas antibakteri

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Serbuk Kayu Siwak (*Salvadora persica*)

Serbuk kayu siwak yang diekstrak secara kimiawi dilaporkan menunjukkan kandungan trimetilamin, klorida, resin, sejumlah besar fluorida dan silika, sulfur dan vitamin C (El-Mostehy dkk., 1998; Lewis, 1982), tiosianat, sulfat dan alkaloid berupa salvadoricine (Darout, 2000). Kandungan kimiawi ini diduga kuat berpengaruh menurunkan jumlah bakteri dan menyehatkan mulut. (Darout, 2000 dan Lewis, 1982).

Gambar 4.1. Hasil variasi pengenceran ekstrak serbuk kayu siwak

4.2 Uji Antibakterial.

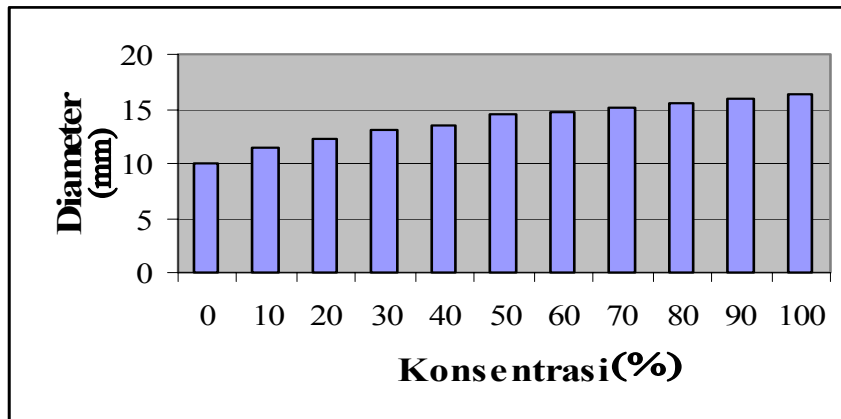
Hasil pengujian daya hambat dengan metode difusi lempeng agar terhadap *S. Mutans* dan *S. Aureus* menunukkan hasil yang berbeda dan bervariasi pada tiap perlakuan. Tabel 4.1 dan Tabel 4.2 menunjukkan diameter zona terang yang terbentuk pada variasi konsentrasi dari 0% sampai dengan 100%.

Tabel 4.1. Rata-rata diameter zona terang pada media yang ditumbuhi bakteri *Streptococcus mutans.*

Konsentrasi Ekstrak Serbuk Kayu Siwak	***Streptococcus mutans***
0 %	10,00[A]
10 %	11,33[B]
20 %	12,2[C]
30 %	13,06[D]
40 %	13,5[E]
50 %	14,5[F]
60 %	14,66[F]
70 %	15,16[G]
80 %	15,5[G]
90 %	16[H]
100 %	16,33[H]

Keterangan : Angka-angka pada setiap kolom yang sama didampingi oleh huruf besar yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95% dengan metode uji Duncan.

Tabel 4.1 menunjukkan, bahwa diameter zona terang terbesar terdapat pada konsentrasi 100% dengan nilai 16,33 mm dan diameter hambatan terendah terdapat pada konsentrasi 10 % yang menunjukkan nilai 11,33 mm. Hasil uji Duncan pada bakteri *S. mutans* pada konsentrasi 0% sampai dengan 40% berbeda nyata, sedangkan dari konsentrasi 50% sampai dengan konsentrasi 100% tidak berbeda nyata.

Ekstrak serbuk kayu siwak pada konsentrasi 10% menunjukkan beda nyata dengan kontrol (0 %). Hal ini berarti, ekstrak serbuk kayu siwak memberikan hambatan mulai dari konsentrasi 10%, dan seiring dengan kenaikan konsentrasi, maka daya hambat yang dihasilkan juga semakin besar.

Gambar 4.2 : Grafik hubungan antara diameter zona terang dengan konsentrasi siwak pada bakteri *Streptococcus mutans.*

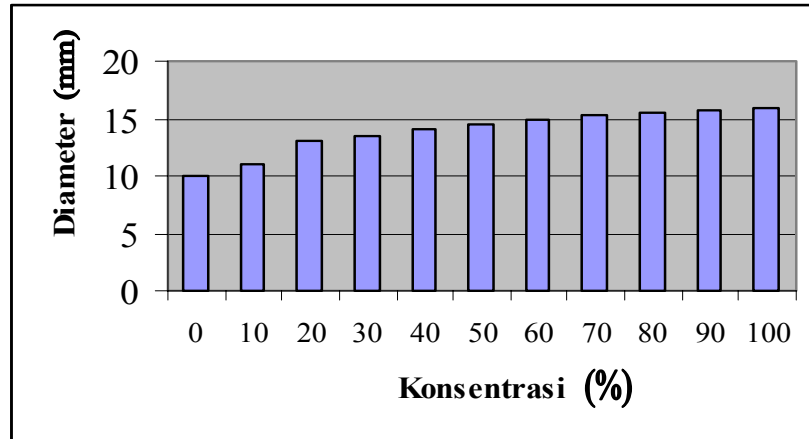
Dari grafik pada gambar 4.3 diatas, tampak bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak serbuk kayu siwak, maka zona terang yang dihasilkan juga semakin besar. Hal ini sesuai dengan pendapat Greenwood (1995) dan Pelczar (1994) yang menyatakan bahwa jika semakin besar konsentrasi antimikrobial, maka zona hambatan yang terbentuk juga semakin besar.

Tabel 4.2. Rata-rata diameter zona terang pada media yang ditumbuhi bakteri *Staphylococcus aureus.*

Konsentrasi Ekstrak Serbuk Kayu Siwak	*Staphylococcus aureus*
0 %	$10{,}00^{A}$
10 %	11^{B}
20 %	13^{C}
30 %	$13{,}5^{CD}$
40 %	14^{DE}
50 %	$14{,}56^{EF}$
60 %	15^{FG}
70 %	$15{,}3^{FGH}$
80 %	$15{,}5^{GH}$
90 %	$15{,}66^{GH}$
100 %	$15{,}83^{I}$

Keterangan : Angka-angka pada setiap kolom yang sama didampingi oleh huruf besar yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf kepercayaan 95% dengan metode uji Duncan.

Tabel 4.2 menunjukkan rata-rata diameter zona terang pada bakteri *Staphylococcus aureus* dimana zona hambatan terbesar terdapat pada konsentrasi 100% dengan nilai 15,83 mm untuk sedangkan diameter hambatan terendah terdapat pada konsentrasi 10 % yang menunjukkan nilai 11 mm.

Hasil uji Duncan pada bakteri *S. aureus* menunjukkan kontrol berbeda nyata dengan konsentrasi 10%. Hal ini berarti daya penghambatan ekstrak serbuk kayu siwak terhadap *S. aureus* dimulai dari konsentrasi 10 % dan seiring dengan pertambahan konsentrasi maka zona hambatan yang dihasilkan juga semakin besar.

Gambar 4.3 : Grafik hubungan antara diameter zona terang dengan konsentrasi siwak pada bakteri *Staphylococcus aureus.*

Grafik pada gambar 4.4 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak serbuk kayu siwak, maka zona terang yang dihasilkan semakin besar. Hal ini sesuai dengan yang dinyatakan Pelczar (1994), bahwa semakin tinggi konsentrasi zat antimikrobial yang digunakan, maka semakin tinggi pula kemampuannya di dalam mengendalikan mikroorganisme.

Dari data tabel dan grafik pada *S. mutans* dan *S. aureus,* tampak bahwa *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* memiliki zona terang yang berbeda nyata dengan kontrol mulai dari konsentrasi 10%, hal ini menunjukkan sensitivitas bakteri *S. mutans* dan *S. aureus* adalah sama.

Klasifikasi respon hambatan berdasarkan prekalkulasi Ahn dkk (1994) dari kedua data di atas ditunjukkan oleh Tabel 4.3.

Tabel 4.3. Klasifikasi respon hambatan pada media yang ditumbuhi bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* menurut prekalkulasi Ahn dkk. (1994).

Konsentrasi Ekstrak Serbuk Kayu Siwak	*Streptococcus mutans*	*Staphylococcus aureus*
0 %	-	-
10 %	+	+
20 %	+	+
30 %	+	+
40 %	+	+
50 %	+	+
60 %	+	+
70 %	++	++
80 %	++	++
90 %	++	++
100 %	++	++

Keterangan : - : tidak ada respon hambatan; + : respon hambatan lemah; ++ : respon hambatan sedang.

Dari tabel 4.3 dapat diketahui bahwa menurut prekalkulasi Ahn dkk. (1994), ekstrak serbuk kayu siwak pada konsentrasi 10 % hingga 60 % termasuk antibakterial yang bersifat lemah, baik terhadap bakteri *Streptococcus mutans* maupun *Staphylococcus aureus*. Pada konsentrasi 70 % hingga 100 %, ekstrak serbuk kayu siwak dikategorikan sebagai antibakterial yang bersifat sedang di dalam menghambat bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*.

Mekanisme penghambatan terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* oleh ekstrak serbuk kayu siwak ini diduga dikarenakan adanya kandungan zat antibakterial seperti trimetilamin, nitrat, klorida, sulfat, tiosianat dan fluoride.

Trimetilamin adalah senyawa amina tersier yang sederhana, tidak berwarna dan dapat larut di dalam air, alkohol, metanol dan ether. Trimetilamin biasanya digunakan sebagai bahan utama sintesa kimia senyawa kolin, trimetil amonium hidroksida, *dye* (pewarna), pestisida dan agen antiseptik (Anonymous, Chemical-land, 2005). Sifat-sifat yang dimiliki oleh trimetilamin ini dapat merusak tegangan permukaan lapisan membran sel sehingga membran sel kehilangan sifat permeabilitasnya. Membran sel berfungsi menjaga integritas komponen-komponen seluler. Apabila sifat permeabilitas pada membran sel hilang, maka aliran keluar masuknya bahan-bahan dan zat-zat tertentu akan terganggu, sehingga dapat menganggu metabolisme dan menyebabkan rusaknya sel yang dapat menyebabkan kematian pada bakteri.

Nitrat, klorida dan sulfat dilaporkan oleh Darout dkk (2000) dapat mengganggu transport aktif bakteri dengan cara merubah suasana pH. Perubahan pH akan menyebabkan tanggapan sel bakteri berubah, sehingga mempengaruhi transportasi aktif bakteri di dalam menyalurkan nutrisi mineral dan asam anorganik. Volk dan Wheeler (1993) melaporkan bahwa kerja mineral dan asam anorganik bergantung pada dissosiasi ion hidrogen (H^+). Apabila kondisi pH berubah, maka mineral dan asam anorganik akan berikatan dengan ion hidrogen membentuk asam yang akan menganggu proses transportasi aktif pada bakteri.

Tiosianat dapat berperan sebagai substrat bagi laktoperoksida untuk membangkitkan hipotiasianat ($OSCN^-$) dengan bantuan hidrogen peroksida (H_2O_2). Hipotiasanat dapat bereaksi dengan kelompok sulfhydril pada enzim yang dihasilkan oleh bakteri yang dapat menyebabkan bakteri menjadi mati. (Darout dkk., 2000). Carlsson dkk (1983) melaporkan bahwa bakteri mulut dapat

memproduksi hidrogen peroksida. Enzim laktoperoksida mengkatalisis oksidasi tiosianat dengan bantuan hidrogen peroksida menjadi hipotiosianat dengan reaksi sebagai berikut :

$$SCN^- + H_2O_2 \rightarrow OSCN^- + H_2O$$

(Ion Tiosianat) + (hidrogen peroksida) → (ion hipotiosianat)

Hipotiosianat ini merupakan senyawa antibakterial lemah yang dapat mengambil alih substrat spesifik sulfhydril pada bakteri sehingga menjadi inaktif.

Fluoride merupakan bentuk ion dari unsur halogen fluorine (F). Fluoride telah terbukti memiliki efek antibakteri, sebagaimana dinyatakan oleh Be Kien Nio (1982). Fluoride memberikan pengaruh terhadap metabolisme organisme di dalam mulut dengan cara menghambat proses glikolisis dan menghalangi transport glukosa ke dalam sel. (Satari, 1990). Hal ini terjadi dikarenakan fluoride mendenaturasi protein dan menginaktifkan enzim pada membran sel sehingga metabolisme bakteri terganggu.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Konsentrasi ekstrak serbuk kayu siwak dari 0% hingga 100% menunjukkan adanya pengaruh penghambatan dimana dengan semakin besar konsentrasi ekstrak yang digunakan, maka zona terang yang dihasilkan juga semakin besar.
2. Pada *S. mutans,* diameter zona terang terbesar terdapat pada konsentrasi 100% dengan nilai 16,33 mm dan diameter hambatan terendah terdapat pada konsentrasi 10 % yang menunjukkan nilai 11,33 mm. Demikian pula *S. aureus*, zona hambatan terbesar terdapat pada konsentrasi 100% dengan nilai 15,83 mm untuk sedangkan diameter hambatan terendah terdapat pada konsentrasi 10 % yang menunjukkan nilai 11 mm
3. Bakteri *S. mutans* dan *S. aureus* dengan mempergunakan uji Duncan dengan taraf kepercayaan 5% menunjukkan beda nyata antara kontrol dengan konsentrasi 10%.
4. Ekstrak serbuk kayu siwak menurut klasifikasi Ahn dkk (1994) adalah termasuk antibakterial sedang mulai dari konsentrasi 70% sampai dengan 100% dan termasuk antibakterial lemah pada konsentrasi 10% sampai dengan 60%.

5.2. Saran

Saran penulis untuk penelitian berikutnya adalah :

1. Penelitian uji antimikrobial ekstrak serbuk kayu siwak pada mikroba lainnya, seperti jamur, ragi atau protozoa.
2. Mempergunakan teknik ekstrak dengan Fluida Supercritis yang diyakini menghasilkan ekstrak yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

Ahn, Y.J., S.H. Chae, I.H. Jeong dan D.H. Choi (1994), Growth inhihibiting effect of Coptis japonica root-derived Isoquinoline Alkaloid on Human Intestinal Bacteria, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, vlol.VII.

Al-Khateeb T.L., D.M. O'Mullane, H. Whelton dan M.I. Sulaiman, 1991, Periodontal treatment needs among Saudi Arabian adults and their relationship to the use of the Miswak*, Research Jou*rnal, King Abdulaziz University, Jeddah, Saudi Arabia.

Al-Lafi T. dan H. Ababneh, 1995, The effect of the extract of the miswak (chewing sticks) used in Jordan and the Middle East on oral bacteria, *Research Journal*, University of Wales College of Medicine, Dental School, Periodontology Department, Cardiff, UK.

Almas, K., 2003, The effect of Salvadora persica extract (miswak) and chlorhexidine gluconate on human dentin: a SEM study, *The Journal of the Contemporary Dental Practise*, Vol. 3, no. 3, August 15, 2002.

_________, 1993, Miswak and its Role in Oral Health, *Research Journal,* Postgraduate Dentist Middle East.

_________, 1999, Miswak : A Cultural and Scientific Heritage, *Saudi Dental Journal* 1999 May-August.

Anonymous, 2005, Chemical-Land, www.chemical-land.com.

Be Kien Nio, 1982, *Preventive Dentistry*, Bagian ke-2, Yayasan Kesehatan Gigi Indonesia, Bandung.

Benson, H.J., 1998, *Microbiological Application : Laboratory Manual in General Microbiology*, McGraw-Hill Book Co., New York, USA.

Capuccino, J. G. dan N. Sherman, 2001, *Microbiology : A Laboratory Manual*, Soxth Edition, Benjamin Cummings, San Fransisico.

Carlsson, J., Y. Iwami,, dan T. Yamada, 1983, Hydrogen Peroxide Excretion by Oral Streptococci and Effect Lactoperoxidase-Thyocianite-Hydrogen Peroxide, *Infection and Immunity Journal*, American Society for Microbiology.

Cason, J. and H. Rapoport, 1992, *Laboratory Text in Organic Chemistry*, Second Edition, Prentice Hall Inc., New Jersey

Chan, E.C.S., W. Al-Joburi, S.L. Cheng dan F. Delorme, 1989, In Vitro Susceptibilties of Oral Bacterial Isolates to Spiramycin : Antimicrobial Agents and Chemotherapy, *Journal of Pharmacology*, American Society for Microbiology

Chen, C., 2001, Periodontitis as a Biofilm Infection, *Journal of The California Fental Association*.

Darout, I. A., 2000, Antimicrobial Anionic Components In Miswak Ext*ract*, *Journal Pharmacology*, Department of Odontology, Faculty of Dentistry, University of Bergen, Bergen, Norway

Dirks. O. B., 1993, *Fluorida dalam Ilmu Kedokteran Gigi : Pencegahan*, Gajah Mada University Press, Yogyakarta

El-Mostehy, M.R., A.A. Al-Jassem, I.A. Al-Yassin, A.R. El-Gindy dan E. Shoukry, 1998*, Siwak-As An Oral Health Device (Preliminary Chemical And Clinical Evaluation)*, Journal Pharmacology, Department of Odontology, Faculty of Dentistry, University of Kuwait, Kuwait.

Gazi, M., T.Saini*,* N.Ashri dan A. Lambourne, 1990, Meswak Chewing Stick versus Conventional Toothbrush as an Oral Hygiene Aid, *Medline Journal.*

Gazi, M.I., A.Lambourne dan A.H. Chagla, 1987, The Antiplaque effect of Toothpaste containing Salvadora persica compared Chlorhexidine Gluconate: A Pilot Study, *Medline Journal*, Clinical Prentive Dentsitry, Lippincott co., Philadelphia.

Gerrit Bos, 1993, The Miswak, an Aspect of Dental Care in Islam, *Medical History*, vol. 37

Greenwood, 1995, *Antibiotics Susceptibility (Sensitivity) Test*, Antimicrobial and Chemoterapy.

Hardie J. dan Ahmed K., 1995, The Miswak as an aid in oral hygiene, *Dental Journal*, J Philipp Dental Assocation

Kartikasari, D., 1995, Pengaruh Minyak Atsiri Temu Hitam (Curcuma aeroginosa Roxb) terhadap biakan bakteri Staphylococcus aureus dan Shigella dysenthriiae secara in vitro, *Skripsi*, Universitas Airlangga, Surabaya.

Michalek, S.M. dan J.R. Mc Ghee, 1982, *Dental Microbiology*, Fourth Edition, Harper & Raw Publisher, Philadelphia.

Nurfalah, Laela, 1996, Uji Daya Antibakterial Pasta Gigi yang Mengandung Siwak dengan Pasta Gigi yang Tidak Mengandung Siwak terhadap Sterptococcus mutans, *Skripsi*, Fakultas Kedoketran Gigi Universitas Padjajaran, Bandung

Pelczar, M.J. dan S. Chan, 1986, *Dasar-dasar Mikrobiologi 1*, UI-Press, Jakarta.

______________________, 1988, *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*, UI-Press, Jakarta.

Roeslan, B., Melanie Errawan, 1988, Sintesis Glukan oleh GT-ase Streptococcus mutans : mekanisme pembentukan plak gigi, *Majalah Ilmiah FKG Usakti*, Th. III, No. 9, Universitas Trisakti, Jakarta.

Schlegel, H.G., 1994, *Mikrobiologi Umum,* edisi keenam, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Satari, H.M., 1990, Pengaruh larutan Natrium Florida terhadap Streptococcus mutans dalam upaya pencegahan karies, *Tesis*, Kedokteran Gigi, Universitas Padjadjaran, Bandung.

Tjitrosoepomo, G., 1996, *Taksonomi Tumbuhan I,* Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

________________, 1998, *Taksonomi Tumbuhan 2,* Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

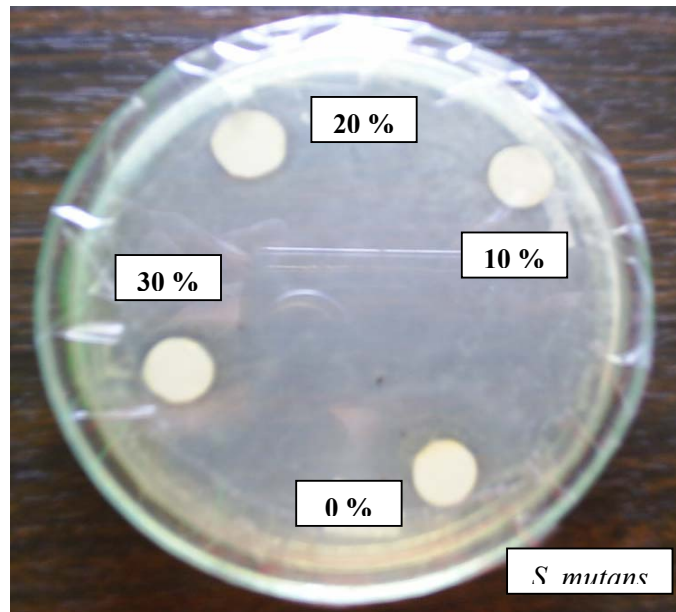
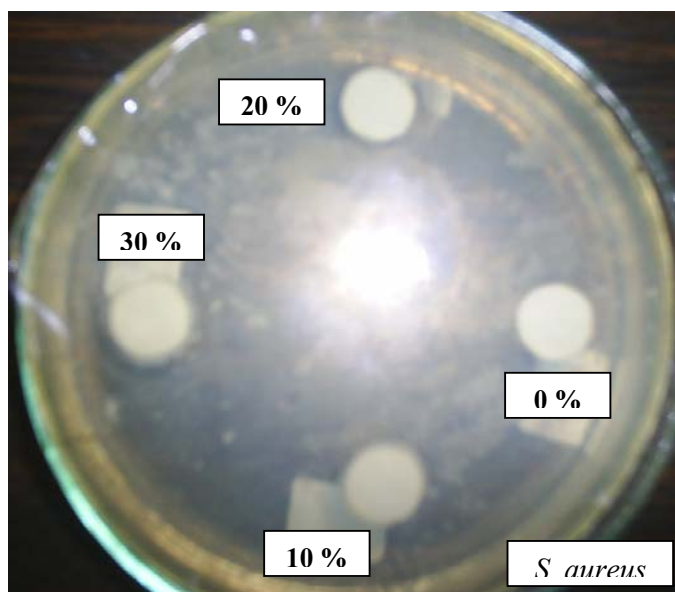
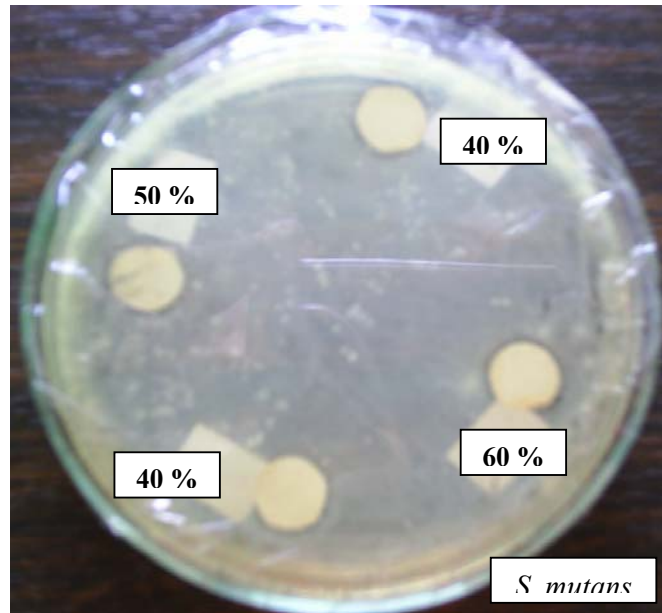
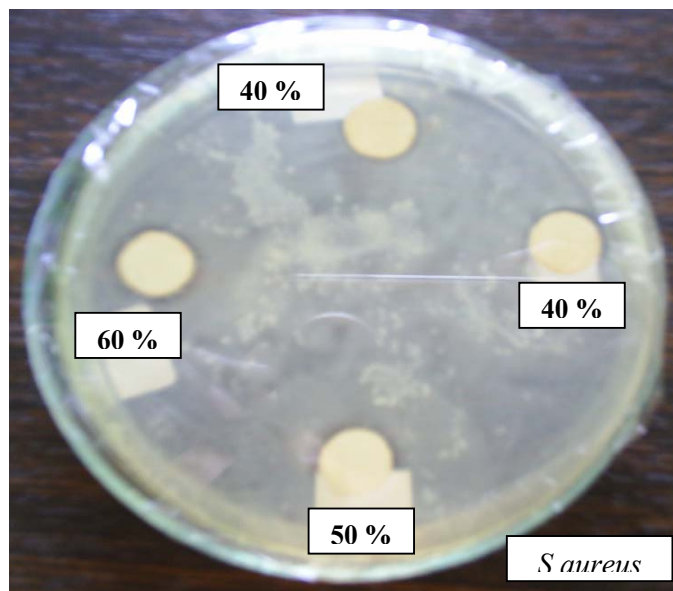
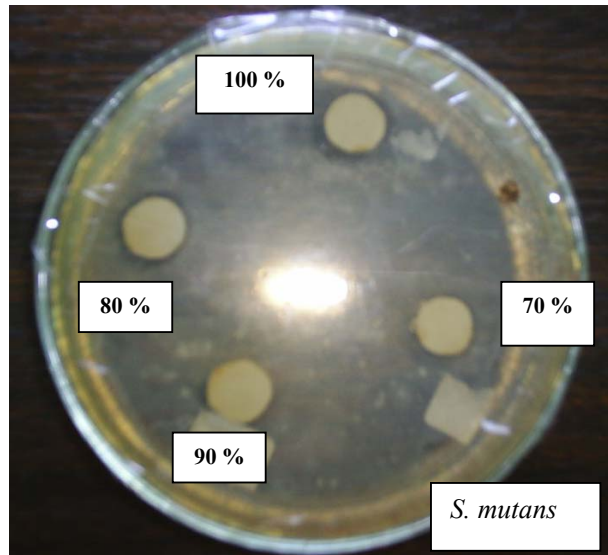
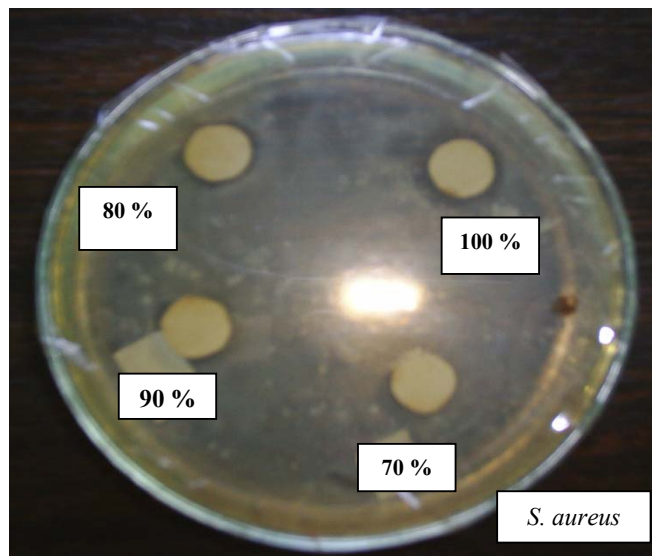
Tortora, G.J., *l.*, 2001, *Microbiology an Introduction,* Addison Wesley Longman Inc., San Fransisco, USA.

Todar, K., 2002, *Staphylococcus*, University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology, www.bact.wisc.edu.

Vardit. R.C., 1992, The Siwak: A Medieval Islamic Contribution to Dental Care, *Journal of the Royal Asiatic Society*, ser. 3, vol. 2

Volk, W.A. dan Margareth F.W., 1993, *Mikrobiologi Dasar*, Edisi kelima, Jilid I, Penerbit Erlangga, Jakarta.

Zamroni, Ahmad, 2003, Pengaruh Variasi Konsentrasi Gula pada Minuman Terh Terfermentasi (Kombucha) terhadap Aktivitas Antibakterial, *Skripsi*, Program Studi Biologi, FMIPA, ITS, Surabaya.

LAMPIRAN A GAMBAR ZONA TERANG

Gambar A.1 Zona terang pada media yang ditumbuhi *Streptococcus mutans* yang diuji dengan kertas cakram yang diberi ekstrak serbuk siwak 0%, 10%, 20% dan 30%

Gambar A.2 Zona terang pada media yang ditumbuhi *Staphylococcus aureus* yang diuji dengan kertas cakram yang diberi ekstrak serbuk siwak 0%, 10%, 20% dan 30%

Gambar A.3 Zona terang pada media yang ditumbuhi *Streptococcus mutans* yang diuji dengan kertas cakram yang diberi ekstrak serbuk siwak 40%, 50%, dan 60%.

GambarA.4 Zona terang pada media yang ditumbuhi *Staphylococcus aureus* yang diuji dengan kertas cakram yang diberi ekstrak serbuk siwak 40%, 50%, dan 60%.

Gambar A.6 Zona terang pada media yang ditumbuhi *Streptococcus mutans* yang diuji dengan kertas cakram yang diberi ekstrak serbuk siwak 100%, 90%, 80% dan 70%

Gambar A.7 Zona terang pada media yang ditumbuhi *Staphylococcus aureus* yang diuji dengan kertas cakram yang diberi ekstrak serbuk siwak 100%, 90%, 80% dan 70%

LAMPIRAN B

Perhitungan Uji Duncan dari pengaruh konsentrasi ekstrak serbuk kayu siwak terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*

	Diameter Zona Terang (mm)										
	0%	**10%**	**20%**	**30%**	**40%**	**50%**	**60%**	**70%**	**80%**	**90%**	**100%**
1	10.70	11.00	12.10	13.00	13.60	14.50	14.60	15.10	15.50	16.00	16.10
2	10.30	11.40	12.00	12.90	13.40	14.60	14.40	15.00	15.00	16.10	16.40
3	10.60	11.60	12.40	13.30	13.50	14.40	15.00	15.40	16.00	15.90	16.50
Total	31.60	34.00	36.60	39.20	40.50	43.50	44.00	45.50	46.50	48.00	49.00
Rata^2	10.53	11.33	12.20	13.06	13.50	14.50	14.66	15.16	15.50	16.00	16.33

Uji Duncan
Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0%	3	10.5333	.20817	.12019	10.0162	11.0504	10.30	10.70
10%	3	11.3333	.30551	.17638	10.5744	12.0922	11.00	11.60
20%	3	12.1667	.20817	.12019	11.6496	12.6838	12.00	12.40
30%	3	13.0667	.20817	.12019	12.5496	13.5838	12.90	13.30
40%	3	13.5000	.10000	.05774	13.2516	13.7484	13.40	13.60
50%	3	14.5000	.10000	.05774	14.2516	14.7484	14.40	14.60
60%	3	14.6667	.30551	.17638	13.9078	15.4256	14.40	15.00
70%	3	15.1667	.20817	.12019	14.6496	15.6838	15.00	15.40
80%	3	15.5000	.50000	.28868	14.2579	16.7421	15.00	16.00
90%	3	16.0000	.10000	.05774	15.7516	16.2484	15.90	16.10
100%	3	16.3333	.20817	.12019	15.8162	16.8504	16.10	16.50
Total	33	13.8879	1.87945	.32717	13.2215	14.5543	10.30	16.50

Test of Homogeneity of Variances

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.265	10	22	.308

ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	111.668	10	11.167	179.759	.000
Within Groups	1.367	22	.062		
Total	113.035	32			

Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets

Duncan

Konsentrasi	N	Subset for alpha = .05							
		A	B	C	D	E	F	G	H
0%	3	10.0000							
10%	3		11.3333						
20%	3			12.1667					
30%	3				13.0667				
40%	3					13.5000			
50%	3						14.5000		
60%	3						14.6667		
70%	3							15.1667	
80%	3							15.5000	
90%	3								16.0000
100%	3								16.3333
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.422	.116	.116

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

LAMPIRAN C

Perhitungan Uji Duncan dari pengaruh konsentrasi ekstrak serbuk kayu siwak terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*

	Diameter Zona Terang (mm)										
	0%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100 %
1	10.30	10.80	13.00	13.70	13.90	14.60	15.20	15.80	15.00	16.50	15.80
2	10.40	11.20	13.50	13.80	13.60	14.10	14.80	15.20	15.50	15.50	16.20
3	10.20	11.00	12.50	13.00	14.50	15.00	15.00	15.00	16.00	15.00	15.50
Total	30.90	33.00	36.00	40.50	42.00	43.70	45.00	46.00	46.50	47.00	47.50
Rata^2	10.30	11.00	13.00	13.50	14.00	14.56	15.00	15.30	15.50	15.66	15.83

Uji Duncan
Descriptives

Diameter 2

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0%	3	10.3000	.10000	.05774	10.0516	10.5484	10.20	10.40
10%	3	11.0000	.20000	.11547	10.5032	11.4968	10.80	11.20
20%	3	13.0000	.50000	.28868	11.7579	14.2421	12.50	13.50
30%	3	13.5000	.43589	.25166	12.4172	14.5828	13.00	13.80
40%	3	14.0000	.45826	.26458	12.8616	15.1384	13.60	14.50
50%	3	14.5667	.45092	.26034	13.4465	15.6868	14.10	15.00
60%	3	15.0000	.20000	.11547	14.5032	15.4968	14.80	15.20
70%	3	15.3333	.41633	.24037	14.2991	16.3676	15.00	15.80
80%	3	15.5000	.50000	.28868	14.2579	16.7421	15.00	16.00
90%	3	15.6667	.76376	.44096	13.7694	17.5640	15.00	16.50
100%	3	15.8333	.35119	.20276	14.9609	16.7057	15.50	16.20
Total	33	13.9727	1.85746	.32334	13.3141	14.6314	10.20	16.50

Test of Homogeneity of Variances

Diameter 2

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.173	10	22	.359

ANOVA

Diameter 2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	106.259	10	10.626	56.375	.000
Within Groups	4.147	22	.188		
Total	110.405	32			

Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets

Duncan

Konsentrasi	N	Subset for alpha = .05							
		A	B	C	D	E	F	G	H
0%	3	10.0000							
10%	3		11.0000						
20%	3			13.0000					
30%	3			13.5000	13.5000				
40%	3				14.0000	14.0000			
50%	3					14.5667	14.5667		
60%	3						15.0000	15.0000	
70%	3						15.3333	15.3333	15.3333
80%	3							15.5000	15.5000
90%	3							15.6667	15.6667
100%	3								15.8333
Sig.		.061	.074	.172	.172	.124	.051	.097	.210

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

LAMPIRAN D

Komposisi Media

A. Komposisi media ”Brain Heart Infusion” Broth :

- Calf Brain Infusion Solids 2,5 gr
- Beef Heart Infusion Solids 5,0 gr
- Protease Pepton (Oxoid) 10 gr
- Sodium Chloride 5 gr
- Dextrose 2 gr
- Disodium phosphate, anhyd 2,5 gr

Dicampur setiap 37 gram di dalam 1 liter aquades, dan disterilisasi di dalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121^o C pada tekanan 1 atm. pH = 7,4.

B. Komposisi media “Blood Agar” :

- Tryticase soy agar powder 40 gr
- Defibrinated sheep or rabbit blood 50 ml

Dicampur setiap 40 gr di dalam 1 liter aquades, dan disterilisasi di dalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121^o C pada tekanan 1 atm. pH = 7,3.

LAMPIRAN E

Metode Ekstraksi

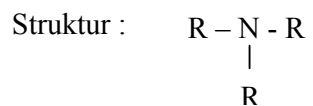
- 1 kg serbuk kayu siwak dimaserasi dengan metanol di dalam *maseration tube* selama 24 jam dalam kisaran suhu kurang lebih 60^{o} C.
- Hasil maserasi difiltrasi dengan menggunakan kertas membran filter hingga filtrat terpisah.
- Filtrat dievaporasi dengan rotary evaporator hingga metanol terpisah dari hasil ekstrak.
- Hasil ekstrak ditampung dan disimpan di dalam erlenmeyer yang ditutupi kertas logam agar tidak terpapar langsung dengan sinar matahari.

LAMPIRAN F

Struktur kimia beberapa senyawa

1. Trimetilamin (N,N-Dimethylamine)

   Rumus kimia : C_3H_9N (R_3N)

   Struktur : R – N - R
   |
   R

2. Salvadoricine

   Rumus kimia : $C_{11}H_{11}NO$

   Struktur :

   CH3
   COCH3
   N-H